

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

| | |
|---|---|
| Date of mailing (day/month/year) 20 May 1999 (20.05.99) | |
| International application No. PCT/EP98/05924 | Applicant's or agent's file reference 01858pct |
| International filing date (day/month/year) 17 September 1998 (17.09.98) | Priority date (day/month/year) 20 September 1997 (20.09.97) |
| Applicant MOSER, Markus et al | |

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
09 April 1999 (09.04.99)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

| | |
|--|---|
| The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland | Authorized officer Pamella AMALLO-ELOTU |
| Facsimile No.: (41-22) 740.14.35 | Telephone No.: (41-22) 338.83.38 |

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

| | |
|---|---|
| Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 01858pct | WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5 |
| Internationales Aktenzeichen PCT/EP 98/05924 | Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/09/1998 |
| (Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 20/09/1997 | |
| Anmelder PRIONICS AG et al. | |

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nichtrecherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

2. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

3. ☒ In der internationalen Anmeldung ist ein Protokoll einer Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz offenbart; die internationale Recherche wurde auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt,

☒ das zusammen mit der internationalen Anmeldung eingereicht wurde.

☐ das vom Anmelder getrennt von der internationalen Anmeldung vorgelegt wurde,

☐ dem jedoch keine Erklärung beigefügt war, daß der Inhalt des Protokolls nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der eingereichten Fassung hinausgeht.

☐ das von der Internationalen Recherchenbehörde in die ordnungsgemäße Form übertragen wurde.

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt.

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der Feld III angegebenen Fassung von dieser Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Internationalen Recherchenbehörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen:

Abb. Nr. ☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☒ keine der Abb.

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

| | | |
|--|--|---|
| A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 6 C12N15/12 C07K14/47 A61K38/17 A61K39/395 G01N33/68 | | |
| Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK | | |
| B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 6 C12N C07K A61K G01N | | |
| Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen | | |
| Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) | | |
| C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN | | |
| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
| X | WO 93 11155 A (PROTEUS MOLECULAR DESIGN) 10. Juni 1993 siehe Seite 3, Zeile 2 - Zeile 24 siehe Seite 23, Zeile 14 - Zeile 22 siehe Seite 28, Zeile 29 - Seite 29, Zeile 29; Ansprüche; Beispiele --- | 1-3,7-17 |
| X | WO 97 16728 A (UNIV CALIFORNIA) 9. Mai 1997 siehe Seite 6, Zeile 11 - Zeile 24; Ansprüche; Beispiele; Tabelle 1 --- | 1,3,10 |
| P,X | EP 0 861 900 A (ZUERICH ERZIEHUNGSDIREKTION) 2. September 1998 siehe Seite 8, Zeile 54 - Seite 9, Zeile 8 siehe Seite 14, Zeile 54 - Seite 15, Zeile 37; Ansprüche; Beispiele --- <div style="text-align: right;">-/--</div> | 1-3, 10-18 |
| <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen </div> <div> <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie </div> </div> | | |
| <div style="display: flex;"> <div style="width: 50%;"> <p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> </div> <div style="width: 50%;"> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p> </div> </div> | | |
| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche <div style="text-align: center; font-weight: bold;">9. Februar 1999</div> | | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts <div style="text-align: center; font-weight: bold;">24/02/1999</div> |
| Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | | Bevollmächtigter Bediensteter <div style="text-align: center; font-weight: bold;">Fuhr, C</div> |

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie° | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| P,X | KORTH, C. ET AL: "Prion (PrPSc)-specific epitope defined by a monoclonal antibody" NATURE (LONDON) (1997), 390(6655), 74-77 CODEN: NATUAS;ISSN: 0028-0836, 6. November 1997, XP002092791 siehe das ganze Dokument ---- | 1-3, 10-18 |
| P,X | WO 98 35236 A (ENFER TECH LTD ;CONNOR MICHAEL O (IE)) 13. August 1998 siehe Ansprüche; Beispiele ---- | 1-3,7-17 |
| A | WO 93 23432 A (UNIV NEW YORK ;INST NAZIONALE NEUROLOGICO C B (IT)) 25. November 1993 siehe Ansprüche; Beispiele ----- | 1-17 |

| Patent document cited in search report | | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9311155 | A | 10-06-1993 | AU 675053 B | 23-01-1997 |
| | | | AU 3089292 A | 28-06-1993 |
| | | | CA 2124953 A | 10-06-1993 |
| | | | EP 0616613 A | 28-09-1994 |
| | | | JP 7501798 T | 23-02-1995 |
| | | | NZ 246059 A | 28-08-1995 |
| | | | US 5773572 A | 30-06-1998 |
| | | | ZA 9209392 A | 27-07-1993 |
| WO 9716728 | A | 09-05-1997 | US 5750361 A | 12-05-1998 |
| | | | AU 7601296 A | 22-05-1997 |
| EP 0861900 | A | 02-09-1998 | WO 9837210 A | 27-08-1998 |
| | | | AU 6498698 A | 09-09-1998 |
| WO 9835236 | A | 13-08-1998 | AU 6004698 A | 26-08-1998 |
| WO 9323432 | A | 25-11-1993 | AU 4376093 A | 13-12-1993 |

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

| | | |
|--|---|--|
| Applicant's or agent's file reference 01858pct | FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416) | |
| International application No. PCT/EP98/05924 | International filing date (day/month/year) 17 September 1998 (17.09.1998) | Priority date (day/month/year) 20 September 1997 (20.09.1997) |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/12 | | |
| Applicant PRIONICS AG | | |

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 2 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☒ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

| | |
|---|--|
| Date of submission of the demand 09 April 1999 (09.04.1999) | Date of completion of this report 07 December 1999 (07.12.1999) |
| Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465 | Authorized officer Telephone No. 49-89-2399-0 |

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-15, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. 1-18, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. _____, filed with the letter of _____,
Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig _____, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig 1/2-2/2, filed with the letter of 14 January 1999 (14.01.1999),
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☒ the drawings, sheets/fig 4

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

See annex

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

It is not clear whether the original Illustration 4 (sheet 3/3) was deleted or is still part of the application documents (the newly submitted pages of illustrations are designated as sheets 1/2 and 2/2).

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

| | | | |
|-------------------------------|--------|-----------------|-----|
| Novelty (N) | Claims | 2, 3, 6, 17, 18 | YES |
| | Claims | 1, 4, 5, 7-16 | NO |
| Inventive step (IS) | Claims | 2, 3, 6, 17, 18 | YES |
| | Claims | | NO |
| Industrial applicability (IA) | Claims | 1-18 | YES |
| | Claims | | NO |

2. Citations and explanations

1. The present international application concerns synthetic polypeptides which contain one or several amino acid sequences of PrP which can be detected by PrP^{Sc} bonding substances. The polypeptides can be used for diagnosing, preventing and treating prion-related diseases.
2. The following documents are referred to:
D1: WO-A-93/11155
D2: WO-A-97/16728
3. The subject matter of Claim 1 is not considered novel over D1 or D2 (PCT Art. 33(2)).
D1 discloses synthetic polypeptides which are derived from PrP. The peptides have antigen areas of PrP^{Sc} and can be used in diagnosis, prevention and therapeutic treatments of spongiform encephalopathies. Antibodies which are directed against the peptides can be used to differentiate between PrP^C and PrP^{Sc}.

D2 provides PrP peptides which bond to PrP^C and bring about the formation of a prion-protein complex with PrP^{Sc} characteristics (*inter alia*, an increased

proportion of β -pleated sheet structures). The peptides can be used to locate compounds (for example, antibodies) which prevent or at least reduce the bonding of PrP peptides to PrP^c and can thus have a therapeutic efficacy on the prevention and treatment of prion-related illnesses.

Claim 1 is concerned in general with peptides which contain one or several sequences of PrP which can be recognised by PrP^{Sc}-bonding substances. The peptides disclosed in D1 or D2 satisfy the criteria of Claim 1.

Claims 4 and 5, which are dependent on Claim 1, are not novel over D2 either, since the peptides described in D2 likewise induce the formation of β -strands.

D1 is prejudicial to the novelty of Claims 7-9, insofar as they are dependent on Claim 1. Substituting amino acid residues with the corresponding D-stereoisomers, and retro-inverso modification of peptides, are described on page 21, line 20 to page 23, line 22.

The use of peptides from D1 to produce pharmaceutical preparations, diagnostic means, vaccines for preventing and treating prion-related illnesses, kits for detecting prion proteins and antibodies, and the production of specific antibodies against the inventive peptides, are likewise described (see page 26, line 25 to page 29, line 18). D1 also discloses coding DNA for the peptide (page 24, lines 12-23).

The subject matter of Claims 10-16 is thus likewise

not novel over D1.

5. The specific peptides as per Claims 2, 3 and 6 are neither disclosed in the prior art, nor are they obviously proposed therein. The claimed peptides appear to be advantageous over the peptides in D1 since they clearly form individual epitopes. They can therefore be considered novel and inventive. The method for detecting PrP^{Sc}-specific surface sequence areas as per Claim 17, in which a PrP-specific peptide bank is incubated with PrP^{Sc} bonding substances and the corresponding sequence area is detected, and the use of the inventive polypeptide as per Claim 18, cannot be derived from the prior art in an obvious manner.

VI. Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

Application No.
Patent No.

Publication date
(day/month/year)

Filing date
(day/month/year)

Priority date (valid claim)
(day/month/year)

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

Kind of non-written disclosure

Date of non-written disclosure
(day/month/year)

Date of written disclosure
referring to non-written disclosure
(day/month/year)

See annex

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: VI

Certain published documents (PCT Rule 70.10)

| Patent No. | Publication date | Filing date | Priority date |
|------------|------------------|-------------|---------------|
|------------|------------------|-------------|---------------|

| | | | |
|----------------|----------|----------|--|
| EP-A-0 861 900 | 02.09.98 | 21.02.97 | |
|----------------|----------|----------|--|

This document was submitted before, but published after the priority date of the present application.

Consequently, it is not prior art under PCT Rule 64.1(b). However, it could become important with respect to the novelty of the claimed subject matter during the regional examination phase.

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

1. In the newly submitted illustrations, the previous designations a-d and e-i have been replaced by the numbers 1-4 and 1-5 respectively. This is not in accordance with the designations used in the description and in the claims and thus leads to a lack of clarity.
2. In Claim 6, instead of the designations (j) and (k) used on page 8 for the peptides, the designations (e) and (f) are used, which, however, in Claim 3, already designate other peptides.
3. In Claim 6, R_4 is not defined.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. Claims 2 and 3 concern synthetic polypeptides in which the sequence corresponds to one of the formulae (a) to (d) and (e) to (i), respectively, and at least one of the said sequences or a combination of several sequences is contained. The term "and" appears unclear in this context. The first part of the claim specifies that the sequence of the polypeptide corresponds to a specific formula, whereas the second part ("at least one of said sequences is contained") implies that the polypeptide can also be longer. However, the two possibilities are mutually exclusive. The term "and" is therefore incorrect in this context.
2. In Claim 6, in addition to peptide (b), a so-called "conformation" sequence is also present, which does not correspond to any of the peptides in Claims 2 or 3. The claim cannot therefore be dependent on Claim 2.

In this connection, it is also drawn to the applicants' attention that the expression "conformation sequence" in Claims 4 and 5 is not clear. A person skilled in the art does not know which sequence is to be used as a "conformation sequence". The claims attempt to define the subject matter by means of the result which is to be achieved (inducing a defined conformation). However, this merely indicates the problem which is to be solved.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

M. H.

PCT

REC'D 13 DEC 1999

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



| | | |
|--|---|---|
| Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 01858pct | WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416) | |
| Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/05924 | Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/09/1998 | Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 20/09/1997 |
| Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/12 | | |
| Anmelder PRIONICS AG | | |

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

 Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:
 - ☒ Grundlage des Berichts
 - ☐ Priorität
 - ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
 - ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
 - ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
 - ☒ Bestimmte angeführte Unterlagen
 - ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
 - ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

| | |
|--|--|
| Datum der Einreichung des Antrags 09/04/1999 | Datum der Fertigstellung dieses Berichts 07. 12. 99 |
| Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465 | Bevollmächtigter Bediensteter Huber, A Tel. Nr. +49 89 2399 8173  |

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-15 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-18 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/2,2/2 eingegangen am 15/01/1999 mit Schreiben vom 14/01/1999

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☒ Zeichnungen, Blatt: Fig. 4

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

siehe Beiblatt

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

| | | |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|
| Neuheit (N) | Ja: Ansprüche | 2, 3, 6, 17, 18 |
| | Nein: Ansprüche | 1, 4, 5, 7-16 |
| Erfinderische Tätigkeit (ET) | Ja: Ansprüche | 2, 3, 6, 17, 18 |
| | Nein: Ansprüche | |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (GA) | Ja: Ansprüche | 1-18 |
| | Nein: Ansprüche | |

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

VI. Bestimmte angeführte Unterlagen

1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

und / oder

2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)

siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

siehe Beiblatt

Zu Punkt I

Grundlage des Berichts

Es ist nicht klar, ob die ursprüngliche Abbildung 4 (Blatt 3/3) gestrichen wurde oder weiterhin Teil der Anmeldeunterlagen ist (die neu eingereichten Abbildungsseiten wurden mit Blatt 1/2 und 2/2 bezeichnet).

Zu Punkt V

Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Vorliegende internationale Anmeldung betrifft synthetische Polypeptide, die eine oder mehrere Aminosäuresequenzen von PrP enthalten, die von PrP^{Sc}-bindenden Substanzen erkannt werden. Die Polypeptide können zur Diagnose, Vorbeugung und Behandlung von Prionerkrankungen verwendet werden.
2. Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: WO -A - 93/11155

D2: WO -A - 97/16728

3. Der Gegenstand von Anspruch 1 wird nicht als neu gegenüber D1 oder D2 angesehen (Art. 33(2) PCT).
D1 offenbart von PrP abgeleitete synthetische Polypeptide. Die Peptide weisen antigene Bereiche von PrP^{Sc} auf und finden Anwendung in Diagnostik, Vorbeugung und Therapie von spongiformen Enzephalopathien. Antikörper, die gegen die Peptide gerichtet sind, können zur Unterscheidung von PrP^C und PrP^{Sc} verwendet werden.

D2 stellt PrP Peptide zur Verfügung, die an PrP^C binden und die Ausbildung eines Prion-Protein Komplexes mit Eigenschaften von PrP^{Sc} (u.a. erhöhter Anteil an β -

Faltblatt Strukturen) hervorrufen. Mit Hilfe der Peptide können Verbindungen (z.B. Antikörper) aufgefunden werden, die die Bindung von PrP Peptiden an PrP^C verhindern oder zumindest herabsetzen und somit therapeutische Wirksamkeit bei der Vorbeugung und Behandlung von Prionerkrankungen haben können.

Anspruch 1 ist allgemein auf Peptide gerichtet, die eine oder mehrere Sequenzen von PrP enthalten, die von PrP^{Sc}-bindenden Substanzen erkannt werden. Die in D1 und D2 offenbarten Peptide erfüllen die Kriterien von Anspruch 1.

Die von Anspruch 1 abhängigen Ansprüche 4 und 5 sind im Hinblick auf D2 ebenfalls nicht neu, da die in D2 beschriebenen Peptide ebenfalls die Ausbildung von β -Strands induzieren.

Ansprüche 7-9, soweit sie von Anspruch 1 abhängig sind, sind von D1 neuheitsschädlich getroffen. Die Substitution von Aminosäureresten mit den entsprechenden D-Stereoisomeren, sowie retro-inverso Modifikation von Peptiden ist auf Seite 21, Zeile 20 bis Seite 23, Zeile 22 beschrieben.

Die Verwendung der Peptide von D1 zur Herstellung von pharmazeutischen Zubereitungen, Mitteln zur Diagnose, Impfstoffen zur Vorbeugung und Behandlung von Prionerkrankungen, Kits zur Detektion von Prionproteinen und Antikörpern, sowie die Herstellung spezifischer Antikörper gegen die erfindungsgemäßen Peptide ist ebenfalls beschrieben (siehe Seite 26, Zeile 25 bis Seite 29, Zeile 18. Auch für die Peptide kodierende DNA ist in D1 offenbart (Seite 24, Zeilen 12-23).

Der Gegenstand von Ansprüchen 10-16 ist daher ebenfalls nicht neu im Hinblick auf D1.

5. Die spezifischen Peptide gemäß Ansprüchen 2 und 3, sowie Anspruch 6, sind im Stand der Technik weder offenbart noch in naheliegender Weise vorgeschlagen. Die beanspruchten Peptide scheinen gegenüber den Peptiden von D1 vorteilhaft zu sein, da sie offenbar einzelne Epitope ausbilden. Sie können daher als neu und erfinderisch angesehen werden.

Auch das Verfahren zur Detektion von PrP^{Sc} spezifischen Oberflächensequenzbereichen gemäß Anspruch 17, bei dem eine PrP-spezifische

Peptidbank mit PrP^{Sc} bindenden Substanzen inkubiert wird und die entsprechenden Sequenzbereiche ermittelt werden, sowie die Verwendung der erfindungsgemäßen Polypeptide gemäß Anspruch 18 können aus dem Stand der Technik nicht in naheliegender Weise abgeleitet werden.

Zu Punkt VI

Bestimmte angeführte Unterlagen

Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

| Anmelde Nr. Patent Nr. | Veröffentlichungsdat um (Tag/Monat/Jahr) | Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) | Prioritätsdatum (zu Recht beansprucht) (Tag/Monat/Jahr) |
|---------------------------|--|----------------------------------|---|
| EP-A-0 861 900 | 02.09.98 | 21.02.97 | |

Dieses Dokument wurde vor dem Prioritätstag vorliegender Anmeldung eingereicht, aber erst danach veröffentlicht.

Es gehört daher nicht zum Stand der Technik gemäß Regel 64(1)(b) PCT. Es kann jedoch während der regionalen Prüfungsphase von Bedeutung für die Neuheit des beanspruchten Gegenstandes werden.

Zu Punkt VII

Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

1. In den neu eingereichten Abbildungen wurden die bisherigen Bezeichnungen a-d, bzw. e-i durch die Zahlen 1-4, bzw. 1-5 ersetzt. Dies ist nicht in Übereinstimmung mit den in der Beschreibung und den Ansprüchen verwendeten Bezeichnungen und führt daher zu Unklarheiten.
2. In Anspruch 6 werden anstelle der auf Seite 8 der Beschreibung verwendeten

Bezeichnungen (j) und (k) für die Peptide (e) und (f) verwendet, die in Anspruch 3 jedoch bereits andere Peptide bezeichnen.

3. In Anspruch 6 fehlt die Definition für R_4 .

Zu Punkt VIII

Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

1. Ansprüche 2 und 3 betreffen synthetische Polypeptide, bei denen die Sequenz einer der Formeln (a) bis (d), bzw. (e) bis (i) entspricht und mindestens eine der genannten Sequenzen oder eine Kombination mehrerer Sequenzen enthalten ist. Der Begriff "und" erscheint in diesem Zusammenhang unklar. Der erste Teil des Anspruchs legt fest, daß die Sequenz des Polypeptids einer bestimmten Formel entspricht, während der zweite Teil ("mindestens eine der genannten Sequenzen enthalten ist") impliziert, daß das Polypeptid auch länger sein kann. Die beiden Möglichkeiten schließen einander jedoch aus. Der Begriff "und" ist in diesem Zusammenhang also falsch.
2. In Anspruch 6 ist zusätzlich zu Peptid (b) eine sog. "Konformations"-Sequenz vorhanden, die keinem der Peptide in Ansprüchen 2 oder 3 entspricht. Der Anspruch kann daher nicht von Anspruch 2 abhängig sein.

In diesem Zusammenhang wird der Anmelder auch darauf aufmerksam gemacht, daß der Ausdruck "Konformationssequenz" in Ansprüchen 4 und 5 nicht klar ist. Der Fachmann weiß nicht, welche Sequenz als "Konformationssequenz" zu verwenden ist. In den Ansprüchen wird versucht, den Gegenstand durch das zu erreichende Ergebnis zu definieren (Induzierung einer definierten Konformation); damit wird aber lediglich die zu lösende Aufgabe angegeben.

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

| | | |
|--|-----------|---|
| (51) Internationale Patentklassifikation ⁶: C12N 15/12, C07K 14/47, A61K 38/17, 39/395, G01N 33/68 | A1 | (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/15651 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 1. April 1999 (01.04.99) |
| (21) Internationales Aktenzeichen: ✓ PCT/EP98/05924 (22) Internationales Anmeldedatum: 17. September 1998 (17.09.98) (30) Prioritätsdaten: 197 41 607.1 <i>20 Mar 00/38 mos</i> 20. September 1997 (20.09.97) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): PRIONICS AG [CH/CH]; Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich (CH). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): ✓ MOSER, Markus [CH/CH]; Waidfussstrasse 25, CH-8037 Zürich (CH). ✓ OESCH, Bruno [CH/CH]; Haldenstrasse 13, CH-5233 Stilli (CH). KORTH, Carsten [DE/US]; 1534 Cole Street, San Francisco, CA 94117 (US). (74) Anwalt: EMMEL, Thomas; Schaefer & Emmel, Gehölzweg 20, D-22043 Hamburg (DE). | | (81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BG, BR, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KP, KR, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MK, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TR, UA, UG, US, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i> |
| (54) Title: SYNTHETIC POLYPEPTIDE FOR DIAGNOSING AND TREATING PRION-RELATED DISEASES ✓ (54) Bezeichnung: SYNTHETISCHE POLYPEPTIDE ZUR DIAGNOSE UND THERAPIE VON PRIONERKRANKUNGEN (57) Abstract The invention relates to a synthetic polypeptide which contains one or more defined sequences of PrP or derived sequences therefrom which are detected by PrPSc bonding substances. (57) Zusammenfassung Synthetisches Polypeptid, das eine oder mehrere definierte Sequenzen von PrP oder davon abgeleitete Sequenzen enthält, die von PrPSc-bindenden Substanzen erkannt werden. | | |

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | | | |
|----|------------------------------|----|--------------------------------------|----|--|----|-----------------------------------|
| AL | Albanien | ES | Spanien | LS | Lesotho | SI | Slowenien |
| AM | Armenien | FI | Finnland | LT | Litauen | SK | Slowakei |
| AT | Österreich | FR | Frankreich | LU | Luxemburg | SN | Senegal |
| AU | Australien | GA | Gabun | LV | Lettland | SZ | Swasiland |
| AZ | Aserbaidshan | GB | Vereinigtes Königreich | MC | Monaco | TD | Tschad |
| BA | Bosnien-Herzegowina | GE | Georgien | MD | Republik Moldau | TG | Togo |
| BB | Barbados | GH | Ghana | MG | Madagaskar | TJ | Tadschikistan |
| BE | Belgien | GN | Guinea | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | ML | Mali | TR | Türkei |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | MN | Mongolei | TT | Trinidad und Tobago |
| BJ | Benin | IE | Irland | MR | Mauretanien | UA | Ukraine |
| BR | Brasilien | IL | Israel | MW | Malawi | UG | Uganda |
| BY | Belarus | IS | Island | MX | Mexiko | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada | IT | Italien | NE | Niger | UZ | Usbekistan |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan | NL | Niederlande | VN | Vietnam |
| CG | Kongo | KE | Kenia | NO | Norwegen | YU | Jugoslawien |
| CH | Schweiz | KG | Kirgisistan | NZ | Neuseeland | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | PL | Polen | | |
| CM | Kamerun | KR | Republik Korea | PT | Portugal | | |
| CN | China | KZ | Kasachstan | RO | Rumänien | | |
| CU | Kuba | LC | St. Lucia | RU | Russische Föderation | | |
| CZ | Tschechische Republik | LI | Liechtenstein | SD | Sudan | | |
| DE | Deutschland | LK | Sri Lanka | SE | Schweden | | |
| DK | Dänemark | LR | Liberia | SG | Singapur | | |
| EE | Estland | | | | | | |

Synthetische Polypeptide zur Diagnose und Therapie von Prionerkrankungen

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf synthetische Polypeptide, die insbesondere bei der Diagnose, Vorbeugung und Behandlung von einer Reihe von übertragbaren, degenerativen neurologischen Erkrankungen Verwendung finden können. Diese Erkrankungen werden unter dem Begriff spongiforme Enzephalopatienten oder auch Prionerkrankungen zusammengefaßt. Sie treten in unterschiedlichen Säugetierspezies auf, z.B. als Scrapie bei Schafen, als BSE bei Kühen und als Kuru oder Creutzfeldt-Jakob-Krankheit bei Menschen.

Als einziges mit dem infektiösen Agens assoziiertes Molekül wurde bislang ein krankheitsspezifisches Prionprotein (PrP^{Sc}) gefunden, das eine abnorme Isoform eines normalen Wirtsproteins (PrP^{C}) unbekannter Funktion ist. Beide Isoformen PrP^{Sc} und PrP^{C} stimmen bezüglich Molekulargewicht und Aminosäuresequenz überein. Sie unterscheiden sich in ihrer räumlichen Faltung und ihren Eigenschaften. Während z.B. PrP^{C} überwiegend α -helicale Sekundärstrukturen besitzt,

löslich und proteaseverdaulich ist, weist PrP^{Sc} vor allem β -Faltblattstrukturen auf, ist unlöslich und kann von Proteasen nur teilweise abgebaut werden. Viele Indizien, insbesondere die Abwesenheit von anderen Molekülen außer PrP^{Sc} im Prion, und vor allem die Abwesenheit von Nukleinsäuren, deuten darauf hin, daß PrP^{Sc} eine (wenn nicht die) zentrale Rolle bei der Auslösung der oben genannten Krankheiten zukommt. Es wird angenommen daß PrP^{Sc}-Proteine in der Lage sind, normale PrP^C-Proteine in die krankheitsspezifische Faltung zu konvertieren, was die Infektiosität von PrP^{Sc}-Proteinen erklären würde.

Es scheint daher vielversprechend ausgehend von PrP^{Sc} als zentralem Krankheitsmolekül Therapie- oder Diagnosemöglichkeiten zu entwickeln.

Aufgabe der Erfindung ist in diesem Zusammenhang, synthetische Polypeptide bereitzustellen, die immunogene Eigenschaften oder generell Bindungseigenschaften des PrP^{Sc} nicht jedoch dessen Infektiosität aufweisen.

Gelöst wird die Aufgabe mit synthetischen Polypeptiden entsprechend des Anspruches 1.

Es handelt sich dabei um Polypeptide, die eine oder mehrere definierte Sequenzen des PrP (PrP bezeichnet das Prionprotein im allgemeinen unabhängig von seiner Konformation) enthalten, wobei diese Sequenzen von PrP^{Sc}-bindenden Substanzen in z.B. den weiter unten beschriebenen Mapping-Experimenten erkannt werden. Es gibt eine ganze Reihe von unterschiedlichen PrP^{Sc}-spezifisch bindenden Substanzen. Beispiele hierfür sind weiter unten angegeben.

Zusammengefaßt enthalten die erfindungsgemäßen synthetischen Polypeptide damit mindestens eine Sequenz, die im nativen PrP^{Sc} an dessen Oberfläche an-

geordnet ist und dort alleine oder in Verbindung mit weiteren der im Rahmen der Erfindung einsetzbaren Sequenzen eine Bindungsstelle bilden. An der Ausbildung dieser PrP^{Sc}-spezifischen Oberflächenstrukturen ist mindestens eine der beiden im Strukturmodell des rekombinanten PrP vorhandenen β -Faltblattstrukturen, oder beide, beteiligt. Es wird angenommen, daß diese Strukturen im PrP^{Sc} als Nukleationspunkt bei der Ausbildung der Oberfläche einen dominierenden Einfluß haben.

Künstliche Polypeptide, die im nativen PrP^{Sc} vorhandene Bindungsstellen simulieren, können sowohl zur Therapie oder Diagnose als auch zur Vorbeugung und sonstigen Anwendungszwecken von Interesse sein.

Unter die Erfindung fallen insbesondere synthetische Polypeptide, die einen oder mehrere der im Anspruch 2 genannten folgenden Sequenzbereiche aufweisen:

- a) Gly-R₁-Asp-R₂-Glu-Asp-Arg-(Tyr-Tyr)
- b) (Gln)-(Val)-Tyr-Tyr-R₃-Pro- R₄-Asp-R₅-Tyr- R₆-(Asn-Gln)
- c) Cys-R₇-Thr-Gln-Tyr-R₈-R₉-Glu-Ser-R₁₀-Ala-(R₁₁-Tyr)
- d) (Tyr-Arg)-Glu-Asn-Met-R₁₂-Arg-Tyr-Pro-Asn-(Gln-Val-Tyr)

in denen R₁ = Asn oder Ser, R₂ = Trp oder Tyr, R₃ = Arg oder Lys, R₄ = Met, Val oder Ala, R₅ = Gln, Glu oder Arg, R₆ = Ser oder Asn, R₇ = Val, Thr oder Ile, R₈ = Gln oder Glu, R₉ = Lys, Arg oder Gln, R₁₀ = Gln oder Glu, R₁₁ = Tyr, Ser oder Ala und R₁₂ = His, Tyr oder Asn ist und die in Klammern angegebenen Aminosäuren nicht zwingend vorhanden sind.

Weitere synthetische Polypeptide im Rahmen der Erfindung können nach Anspruch 3 eine oder mehrere der folgenden Sequenzen enthalten:

- e) Gly-Trp-Gly-Gln-Pro-His-Gly-Gly-Gly-Trp-Gly-Gln-Pro-His-Gly
- f) Lys-Pro-R₁₄-Lys-Pro-Lys-Thr-R₁₄-R₁₅-Lys-His-R₁₆-Ala-Gly
- g) Tyr-R₁₆-Leu-Gly-Ser
- h) Ser-Ala-Met-Ser-Arg-Pro-R₁₇-R₁₇-His-Phe-Gly-R₁₄-Asp
- i) Asn-Met-R₁₈-Arg-Tyr-(Pro-R₁₄)-(Gln-Val-Tyr-Tyr-R₁₉)

in denen R₁₄= Asn oder Ser, R₁₅= Met, Leu oder Phe, R₁₆=Met oder Val, R₁₇= Ile, Leu oder Met, R₁₈= His, Tyr oder Asn und R₁₉= Lys oder Arg ist und die in Klammern gesetzten Aminosäuren oder Sequenzbereiche nicht zwingend vorhanden sind.

Die Sequenzen gemäß Anspruch 2 und 3 wurden in sogenannten "Mapping-Experimenten" auf einer immobilisierten Peptidbank gefunden. Auf der benutzten Peptidbank (erhältlich von Jerini Biotools, Berlin) sind 104 Peptide mit jeweils 13 Aminosäuren mit ihrem C-terminalen Ende auf einer Cellulosemembran befestigt. Sie decken die gesamte Sequenz des PrP (PrP bezeichnet im folgenden generell die dem Prionprotein zugrundeliegende Aminosäuresequenz unabhängig von der Konformation) ab und sind so angeordnet, daß sie um jeweils zwei Aminosäuren verschoben sind, d.h. jeweils 11 Aminosäuren zwischen zwei benachbarten Peptiden überlappen. In mehreren Mapping-Experimenten wurden Peptidbanken mit unterschiedlichen PrP^{Sc} bindenden Substanzen beaufschlagt und die Bindung dieser Substanzen an spezielle Sequenzbereiche unter Verwendung z.B. eines Chemolumineszenz-Kits (ECL, Amersham, USA) sichtbar gemacht.

Zur Ermittlung der Sequenzen gemäß Anspruch 2 wurden in "Mapping-Experimenten" als PrP^{Sc}-bindende Substanzen ein PrP^{Sc}-spezifischer Antikörper mit der Bezeichnung **15B3** und (wie in eigenen Vorversuchen gezeigt wurde

ebenfalls PrP^{Sc}-spezifisches) rekombinantes bovines-PrP (rbPrP) mit der in Fig 4 angegebenen Sequenz eingesetzt. Zur Herstellung von rbPrP kann z.B. eine Zelllinie (z.B. E. coli) mit einem Vektor, der rbPrP exprimiert, in einem geeigneten Medium (z.B. Luria-Broth) angezogen und dann aus den Inklusionskörpern der Zellen nach Lysis und weiteren konventionellen Reinigungsmethoden das Prion-Protein isoliert werden (siehe auch Hornemann et al., FEBS-Letters (97) 413 (2; 277-281)).

Bei 15B3 handelt es sich um einen unlängst von den Erfindern entdeckten monoklonalen PrP^{Sc}-Antikörper. Hybridomazellen, die die genannten (PrP^{Sc} spezifischen) Antikörper 15B3 produzieren, wurden am 13. Februar 1997 unter der Nummer DSM ACC2298 bei der deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH in Braunschweig hinterlegt.

In beiden Fällen erkannten die beiden unterschiedlichen bindenden Substanzen, der Antikörper 15B3 und das rekombinante rbPrP übereinstimmend die Sequenzen a-d gemäß Anspruch 1, wie für 15B3 in Fig. 1 und für rbPrP in Fig. 2 wiedergegeben.

Die in Fig 1 und 2 angegebenen Nummern bezeichnen die unterschiedlichen Peptidsequenzen der Bank, an denen der monoklonale Antikörper 15B3 bzw rbPrP bindet. Die erfindungsgemäßen Sequenzen entsprechen dabei jeweils den den jeweiligen räumlich benachbarten Bindungspeptiden gemeinsamen Bereichen. Fig. 2 gibt dabei wie bereits erwähnt das Ergebnis eines Mappingexperimentes wieder, dessen Bedingungen dem in Fig. 1 dargestellten Experiment entsprechen. Hier wurde lediglich der Antikörper 15B3 gegen rekombinantes bovines rbPrP ausgetauscht. Die Bindungsstellen des rekombinanten rbPrP sind auf der aus technischen Gründen nicht besser wiederzugebenden Darstellung mit

Markierungen hervorgehoben. Es handelt sich um mit Fig. 1 übereinstimmende Bindungsstellen.

Die in Anspruch 3 angegebenen Sequenzen wurden ebenfalls mittels Mappingexperimenten ermittelt. Allerdings wurde hier als erkennende Substanz nicht ein Antikörper oder rbPrP, sondern der Farbstoff Kongorot eingesetzt, dessen spezifische Bindung für PrP^{Sc} bereits seit längerem bekannt ist (Prusiner et al., Cell 35, 349-358; 1983). Fig. 3 zeigt die entsprechende Peptidbank mit den angefärbten Bindungsbereichen, aus denen wie oben angegeben die Sequenzen e-i ermittelt wurden.

In den Fig. 1-3 erkennt man, daß es sich bei den Sequenzen a-d bzw e-i um nicht linear zusammenhängende Sequenzen aus PrP handelt. An einem 3-dimensionalen Modell eines C-terminalen Fragments von rekombinantem Maus-PrP konnte gezeigt werden, daß sich hier zwei der im Anspruch 2 angegebenen Sequenzen a-d in räumlicher Nähe zueinander befinden. Mit großer Wahrscheinlichkeit ist davon auszugehen, daß bei der Konformationsänderung auch die beiden anderen Sequenzen eine andere Position einnehmen, dergestalt daß im PrP^{Sc} wohl alle vier Sequenzen a-d benachbart angeordnet sind und mit hoher Wahrscheinlichkeit ein konformationelles Epitop ausbilden.

Die beanspruchten Sequenzen stellen damit Sequenzbereiche dar, die in einer Peptidbank einzeln von z.B. einem PrP^{Sc}-spezifischen Antikörper erkannt werden und die darüber hinaus mit hoher Wahrscheinlichkeit im nativen PrP^{Sc}-Protein einzeln oder zu mehreren einen oberflächlichen Bindungsbereich, z.B. ein Epitop ausbilden. Unter Epitop wird der spezifische antigene Ort auf der Oberfläche des PrP^{Sc}-Proteins verstanden, der z.B. durch das Idiotyp von 15B3 gebunden werden kann.

Erfindungsgemäß werden damit synthetische Polypeptide bereitgestellt, die im Mindestfall eine der von den genannten PrP^{Sc} bindenden Substanzen in der Peptidbank erkannten Sequenzen (sowie möglicherweise zusätzliche) enthalten.

Künstliche Polypeptide, die einen antigenen Bereich von PrP^{Sc} aufweisen, sind bereits in der WO 93/11153 angegeben worden. Die dort genannten Sequenzen stellen relativ umfangreich Ausschnitte aus der PrP-Sequenz dar. Die genaue Abgrenzung einer Sequenz, die z.B. ein Epitop ausbildet oder daran beteiligt ist, fehlt, was insbesondere den räumlichen Nachbau von minimalen synthetischen Polypeptiden mit z.B. der immunogenen Wirkung von PrP^{Sc} erschwert bzw. unmöglich macht.

Wie oben ausgeführt, können die synthetischen Polypeptide im Minimalfall lediglich aus einer der z.B. im Anspruch 2 oder genannten Sequenzen bestehen. Es ist aber auch möglich, sie mit geeigneten weiteren Sequenzen, die im Folgenden Konformationssequenzen genannt werden, zu verbinden.

Theoretisch wäre es z.B. möglich, z.B. die Sequenzen ggf. über diese Konformationssequenzen und eventuelle weitere Sequenzen dergestalt untereinander zu verbinden, daß die vermutete räumliche Anordnung im PrP^{Sc}-Protein simuliert wird. Im Idealfall würde man auf diese Weise ein Protein mit einer Oberfläche (Epitop) erhalten, in dem wie im PrP^{Sc} mehrere räumlich benachbarte Bindungsstellen enthalten sind.

Erfindungsgemäß ist in einer Ausgestaltung zunächst jedoch vorgesehen, lediglich eine der beanspruchten Sequenzen (Sequenz b) dergestalt mit einer Konformationssequenz zu verknüpfen, daß ein synthetisches Polypeptid mit ausreichender immunogener Bindungswirkung z.B. für 15B3 entsteht, wie Untersuchungen

der Erfinder zeigten. Ein Polypeptid in dieser Ausgestaltung kann eine der beiden folgenden Sequenzen aufweisen:

- j) (X)-(Gly)-Ala-Val-Val-Gly-Gly-Leu-Gly-Gly-Tyr-(R₁₃)-Z-Tyr-Tyr-R₃-Pro-R₄-Asp-R₅-Tyr-R₆-(Asn-Gln)-(Y)
- k) (X)-Tyr-Tyr-R₃-Pro-R₄-Asp-R₅-Tyr-R₆-(Asn-Gln)-Z-(Gly)-Ala-Val-Val-Gly-Gly-Leu-Gly-Gly-Tyr-(R₁₃)-(Y)

wobei X und Y beliebige Aminosäuresequenzen sind, Z ein üblicher Spacer z.B. Gly-Gly ist, R₃ = Arg oder Lys, R₅ = Gln, Glu oder Arg, R₆ = Ser oder Asn und R₁₃ = Met oder Val ist und die in Klammern gesetzten Sequenzbereiche nicht zwingend vorhanden sein müssen.

Die Sequenz j enthält in ihrem C-terminalen Bereich die Sequenz b, die über z.B. den Spacer Gly-Gly mit der sich N-terminal anschließenden Konformationssequenz verbunden ist. In der Sequenz k ist die Abfolge genau umgekehrt. Weitere geeignete Spacer sind generell alle solche Sequenzen, die ausreichende Flexibilität zwischen den verbundenen Peptidbereichen gewährleisten und keinen Einfluß auf die Konformation haben.

Beide bevorzugt eingesetzten synthetischen Polypeptide wurden ausgehend von der Feststellung konzipiert, daß in PrP^{Sc} verstärkt β -Faltblatt-Strukturen auftreten, wobei in aller Regel sequenzauf- oder abwärts eine Konformationssequenz vorliegt, die eine β -Faltblatt-Struktur induziert. Die synthetischen Polypeptide gemäß Anspruch 6 wurden daher mit geeigneten Konformationssequenzen ausgestattet, um die Epitopsequenz in einer für PrP^{Sc}-spezifischen β -Faltblatt-Struktur anzuordnen.

Wie allgemein bekannt, können Aminosäuren in Abhängigkeit von ihrer Größe und ihrer Polarität bzw. Ladung unterschiedlichen Gruppen zugeordnet werden. Man nennt die in eine Gruppe fallenden Aminosäuren untereinander homolog und unterscheidet folgende 5 Gruppen:

- 1.) Kleine aliphatische nicht polare oder nur geringfügig polare Säuren:
Alanin, Serin, Threonin und in Grenzen Glycin, Prolin
- 2.) Polare, negativ geladene Säuren und ihre Amide
Asparaginsäure, Asparagin, Glutaminsäure und Glutamin
- 3.) Polare, positiv geladene Säuren:
Histidin, Arginin, Lysin
- 4.) Große aliphatische, nicht polare Säuren:
Methionin, Leucin, Isoleucin, Valin, Cystein
- 6.) Große aromatische Säuren:
Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan

In vielen Fällen können in Peptidsequenzen enthaltene Aminosäuren durch entsprechende Säuren aus derselben Gruppe ersetzt werden, ohne daß die Eigenschaften der Sequenz dadurch eine Änderung erfahren. Unter die Erfindung fallen daher auch solche Sequenzen, die nicht den explizit genannten Formeln entsprechen, sondern in denen ein Austausch einer oder mehrerer Aminosäuren gegen eine homologe Säure vorgenommen wurde.

Weiterhin kann grundsätzlich davon ausgegangen werden, daß Aminosäuresequenzen unabhängig von ihrer Bildungsrichtung unter bestimmten Umständen ähnliche Bindungseigenschaften, insbesondere Antikörperbindungseigenschaften haben können. Man spricht in diesem Fall von retro-Aminosäuresequenzen und bezeichnet damit übereinstimmende Sequenzen, die in C-oder N-terminaler Richtung gebildet sind (z.B. [N-terminal]-Glu-Ala-Val-Leu-[C-terminal], [N-

terminal]-Leu-Val-Ala-Glu-[C-terminal]). Falls die verwendeten Aminosäuren statt der in Tieren vorkommenden L-Form in der chiralen D-Gegenform vorliegen, so werden die Epitopbereiche spiegelbildlich ausgebildet und ebenfalls von einigen Antikörpern erkannt, wobei sich die Isotypen der Antikörper in diesen Eigenschaften unterscheiden. Man spricht in diesem Fall von inverso-Aminosäuresequenzen. Falls sowohl inverso als auch retro-Aminosäuren verwendet werden, ergeben sich z.B. übereinstimmende Epitopbereiche, die uneingeschränkt von dem zur ursprünglichen Sequenz spezifischen Antikörper gebunden werden. Der Vorteil der Verwendung von z.B. retro-inverso-Aminosäuresequenzen besteht darin, daß D-Aminosäuren vom Organismus langsamer abgebaut werden, da sie von den abbauenden Enzymen schlechter erkannt werden. Der gleiche Effekt kann auch durch die Substitution von nicht natürlichen Aminosäuren erzielt werden. Die erfindungsgemäßen Peptide können daher auch in retro- und/oder inverso Form vorliegen oder weiterhin auch nicht natürliche (also nicht von Organismus produzierte) Aminosäuren enthalten. Nichtnatürliche Aminosäuren lassen sich durch Synthetisierung von z.B. zusätzlichen Seitenketten oder reaktiven Gruppen gezielt mit speziellen Eigenschaften und an bestimmte Anwendungszwecke angepaßt herstellen.

Wie oben ausgeführt, können die erfindungsgemäßen synthetischen Polypeptide insbesondere bei der Behandlung, Vorbeugung oder auch Diagnose von Prionerkrankungen eingesetzt werden.

Es ist insbesondere daran gedacht, die erfindungsgemäßen synthetischen Polypeptide als Impfstoff darzustellen. Dazu wird z.B. eine ausreichende Menge Peptid mit Freund's komplettem Adjuvans aufgelöst und subkutan oder intramuskulär injiziert. In mehrwöchigen Abständen wird wiederum eine immunogene Menge Peptid in Freund's inkomplettem Adjuvans aufgelöst und injiziert (Boost). Ziel der Impfung ist, eine Immunantwort zu provozieren, die die endogene Produktion

von Antikörpern beinhaltet, die spezifisch PrP^{Sc} erkennen und neutralisieren bzw. kennzeichnen können, so daß körpereigene Abwehrmechanismen einer Erkrankung vorbeugen bzw. den Krankheitsprozeß verlangsamen bzw. stoppen können.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die synthetischen Polypeptide in der Diagnose und Therapie einzusetzen. Nach der herrschenden Konversionstheorie wird davon ausgegangen, daß PrP^{Sc} und/oder PrP^C auch untereinander binden. Gestützt wird diese Annahme durch weitere Mappingversuche der Erfinder, in denen gezeigt wurde, daß (wie aus Fig. 2 zu entnehmen) rekombinantes bovines rbPrP an ähnlichen Sequenzbereichen bindet wie der oben genannte Antikörper 15B3.

Die erwähnten Bindungseigenschaften kann man sich z.B. bei der Therapie zunutze machen. Denkbar wäre, die erfindungsgemäßen Polypeptide in den Körper eines erkrankten Patienten hirngängig zu applizieren und dort dem infektiösen PrP^{Sc} als Bindungspartner zur Verfügung zu stellen. Auf diese Weise könnte man die Konversionsrate möglicherweise drastisch senken und das Fortschreiten der Krankheit verlangsamen. Zu Diagnosezwecken wäre es denkbar, in Probenmaterial eventuell erhaltenes PrP^{Sc} mittels der erfindungsgemäßen Polypeptide spezifisch zu binden und dann auf geeignete Weise nachzuweisen.

Die erfindungsgemäßen synthetischen Polypeptide sind nicht auf die angegebenen Sequenzen beschränkt. Denkbar sind auch Peptide, die in derivatisierter Form vorliegen. Interessant könnte es z.B. sein, solche Peptide mit einem Carrier bzw. Immunogen, wie z.B. Diphtheriatoxid oder BSA zur Verstärkung der Immunantwort zu verbinden. Eine weitere Möglichkeit der Derivatisierung wäre die Verknüpfung mit Markern, wie z.B. Biotin oder Peroxidase bzw. mit Enzymen oder Nukleinsäuren. Denkbar wäre schließlich auch, Signalsequenzen vorzuse-

hen, die die Durchgängigkeit der Peptide in gewünschte Kompartimente erleichtern. Gedacht ist dabei insbesondere an die Blut-Hirn-Schranke, deren Passage durch Verwendung von Signalsequenzen, die z.B. an Transferrinrezeptor binden, erleichtert werden könnten.

Wie oben mehrfach angesprochen, sollen die erfindungsgemäßen synthetischen Polypeptide bei der Therapie, Diagnose und Prophylaxe von Prionerkrankungen Verwendung finden. In Verbindung mit allen genannten Anwendungszwecken ist ein wesentliches Element, daß die erfindungsgemäßen Polypeptide einzeln oder in Verbindung mit weiteren Substanzen einem Patienten verabreicht werden, wobei, wie oben ausgeführt, derivatisierte Formen eingesetzt werden können, um die Gängigkeit in bestimmte Kompartimente zu erhöhen.

Die Herstellung der Polypeptide kann auf beliebige Weise erfolgen. Entweder direkt über übliche Peptidsynthese-Techniken oder aber auch indirekt über RNA- oder DNA-Synthese und dann mittels konventioneller molekularbiologischer Techniken. Dementsprechend richtet sich ein weiterer Aspekt der Erfindung auf ein DNA-Molekül, das in der Lage ist, eins der erfindungsgemäßen Polypeptide zu kodieren. Vorzugsweise wird ein solches DNA-Molekül (ggf. auch in einer längeren Sequenz) in einem geeigneten Expressionsvektor zur Verfügung gestellt. Es handelt sich hierbei um Routinetechniken.

Die Erfindung richtet sich weiterhin auch auf einen Kit zur Diagnose von PrP^{Sc} bzw. von Antikörpern gegen PrP^{Sc}, der mindestens eins der erfindungsgemäßen Polypeptide enthält. Man macht sich hierbei die Tatsache zunutze, daß die Polypeptide spezifisch am PrP^{Sc} und an den dagegen gerichteten Antikörpern zu binden vermögen.

Wie oben bereits angesprochen kann eine der zu Ermittlung der Polypeptidsequenzen eingesetzten bindenden Substanzen rekombinantes bovines rbPrP sein. Es hat sich überraschend herausgestellt, daß rekombinantes rbPrP in der Lage ist, spezifisch an PrP^{Sc} zu binden und an der entsprechenden Peptidbank die selben Sequenzen zu erkennen, wie der Antikörper 15B3 (siehe Fig. 2).

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft daher die Verwendung von rekombinantem rbPrP-Protein entsprechend der Sequenz in Fig 4. Es hat sich herausgestellt, daß bei Verabreichung von rekombinantem rbPrP mit der angegebenen Sequenz PrP^{Sc}-spezifische Antikörper produziert werden. Diesen Effekt kann man sich insbesondere im Rahmen der Prophylaxe oder Therapie zunutze machen, indem man einem Patienten rekombinantes rbPrP als Impfstoff aufbereitet verabreicht und eine entsprechende Immunantwort auslöst.

Die Ausgestaltung ist selbstverständlich nicht auf die Verwendung von bovinem rbPrP gemäß Fig. 4 beschränkt. Genauso gut können rekombinante PrP-Sequenzen mit artspezifischen Abweichungen von der in Fig. 4 gezeigten rbPrP-Sequenz verwendet werden.

Schließlich betrifft die Erfindung auch noch ein Verfahren zur Herstellung von PrP^{Sc}-spezifischen Antikörpern. Zur Immunisierung wird nicht menschlichen Säugetieren mindestens eins der erfindungsgemäßen Polypeptide in einer zur Immunisierung ausreichenden Dosis verabreicht und der dagegen gebildete Antikörper mit üblichen Methoden isoliert.

Die erfindungsgemäßen Peptide eignen sich schließlich auch zur Verwendung in sogenannten pharmazeutischen oder chemischen Libraries, mit denen neue Wirkstoffe getestet bzw. ermittelt werden, die spezifisch an PrP^{Sc} binden.

SEQUENZPROTOKOLL

(1) ALLGEMEINE ANGABEN:

(i) ANMELDER:

(A) NAME: Prionics AG
(B) STRASSE: Wintherturerstr. 190
(C) ORT: Zuerich
(D) BUNDESLAND: Zuerich
(E) LAND: Schweiz
(F) POSTLEITZAHL: CH-8090

(A) NAME: Korth, Carsten
(B) STRASSE: 1534 Cole Street
(C) ORT: San Francisco
(D) BUNDESLAND: Kalifornien
(E) LAND: USA
(F) POSTLEITZAHL: CA 94117

(A) NAME: Oesch, Bruno
(B) STRASSE: Haldenstrasse 13
(C) ORT: Stilli
(E) LAND: Schweiz
(F) POSTLEITZAHL: CH 5233

(A) NAME: Moser, Markus
(B) STRASSE: Waidfussstrasse 25
(C) ORT: Zuerich
(D) BUNDESLAND: Zuerich
(E) LAND: Schweiz
(F) POSTLEITZAHL: CH-8037

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Synthetische Polypeptide zur
Diagnose und Therapie von Prionerkrankungen

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 1

(iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

(A) DATENTRÄGER: Floppy disk
(B) COMPUTER: IBM PC compatible
(C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
(D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

(vi) DATEN DER URANMELDUNG:

(A) ANMELDENUMMER: DE 19741607.1
(B) ANMELDETAG: 20-SEP-1997

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 219 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(iii) HYPOTHETISCH: JA

(iv) ANTISENSE: NEIN

(vi) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

- (A) ORGANISMUS: Bos taurus

(viii) POSITION IM GENOM:

- (C) EINHEITEN: 219

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Lys | Lys | Arg | Pro | Lys | Pro | Gly | Gly | Gly | Trp | Asn | Thr | Gly | Gly | Ser | 1 | 5 | 10 | 15 |
| Arg | Tyr | Pro | Gly | Gln | Gly | Ser | Pro | Gly | Gly | Asn | Arg | Tyr | Pro | Pro | Gln | 20 | 25 | 30 | |
| Gly | Gly | Gly | Gly | Trp | Gly | Gln | Pro | His | Gly | Gly | Gly | Trp | Gly | Gln | Pro | 35 | 40 | 45 | |
| His | Gly | Gly | Gly | Trp | Gly | Gln | Pro | His | Gly | Gly | Gly | Trp | Gly | Gln | Pro | 50 | 55 | 60 | |
| His | Gly | Gly | Gly | Trp | Gly | Gln | Pro | His | Gly | Gly | Gly | Gly | Trp | Gly | Gln | 65 | 70 | 75 | 80 |
| Gly | Gly | Thr | His | Gly | Gln | Trp | Asn | Lys | Pro | Ser | Lys | Pro | Lys | Thr | Asn | 85 | 90 | 95 | |
| Met | Lys | His | Val | Ala | Gly | Ala | Ala | Ala | Ala | Gly | Ala | Val | Val | Gly | Gly | 100 | 105 | 110 | |
| Leu | Gly | Gly | Tyr | Met | Leu | Gly | Ser | Ala | Met | Ser | Arg | Pro | Leu | Ile | His | 115 | 120 | 125 | |
| Phe | Gly | Ser | Asp | Tyr | Glu | Asp | Arg | Tyr | Tyr | Arg | Glu | Asn | Met | His | Arg | 130 | 135 | 140 | |
| Tyr | Pro | Asn | Gln | Val | Tyr | Tyr | Arg | Pro | Val | Asp | Gln | Tyr | Ser | Asn | Gln | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Asn | Asn | Phe | Val | His | Asp | Cys | Val | Asn | Ile | Thr | Val | Lys | Glu | His | Thr | 165 | 170 | 175 | |
| Val | Thr | Thr | Thr | Thr | Lys | Gly | Glu | Asn | Phe | Thr | Glu | Thr | Asp | Ile | Lys | 180 | 185 | 190 | |
| Met | Met | Glu | Arg | Val | Val | Glu | Gln | Met | Cys | Ile | Thr | Gln | Tyr | Gln | Arg | 195 | 200 | 205 | |
| Glu | Ser | Gln | Ala | Tyr | Tyr | Gln | Arg | Gly | Ala | Ser | | | | | | 210 | 215 | | |

PATENTANSPRÜCHE:

1. Synthetisches Polypeptid, das eine oder mehrere definierte Sequenzen von PrP oder davon abgeleitete Sequenzen enthält, die von PrP^{Sc} - bindenden Substanzen erkannt werden.
2. Synthetisches Polypeptid nach Anspruch 1, bei dem die Sequenz einer der folgenden Formeln entspricht und mind. eine der genannten Sequenzen oder eine Kombination mehrerer Sequenzen enthalten ist:
 - a) Gly-R₁-Asp-R₂-Glu-Asp-Arg-(Tyr-Tyr)
 - b) (Gln)-(Val)-Tyr-Tyr-R₃-Pro- R₄-Asp-R₅-Tyr- R₆-(Asn-Gln)
 - c) Cys-R₇-Thr-Gln-Tyr-R₈-R₉-Glu-Ser-R₁₀-Ala-(R₁₁-Tyr)
 - d) (Tyr-Arg)-Glu-Asn-Met-R₁₂-Arg-Tyr-Pro-Asn-(Gln-Val-Tyr)

in denen R₁ = Asn oder Ser, R₂ = Trp oder Tyr, R₃ = Arg oder Lys, R₄ = Met, Val oder Ala, R₅ = Gln, Glu oder Arg, R₆ = Ser oder Asn, R₇ = Val,

Thr oder Ile, R₈ = Gln oder Glu, R₉ = Lys, Arg oder Gln, R₁₀ = Gln oder Glu, R₁₁ = Tyr, Ser oder Ala und R₁₂ = His, Tyr oder Asn ist und die in Klammern angegebenen Aminosäuren nicht zwingend vorhanden sind.

3. Synthetisches Polypeptid nach Anspruch 1, bei dem die Sequenz einer der folgenden Formeln entspricht und mind. eine der genannten Sequenzen oder eine Kombination mehrerer Sequenzen enthalten ist:

- e) Gly-Trp-Gly-Gln-Pro-His-Gly-Gly-Gly-Trp-Gly-Gln-Pro-His-Gly
- f) Lys-Pro-R₁₄-Lys-Pro-Lys-Thr-R₁₄-R₁₅-Lys-His-R₁₆-Ala-Gly
- g) Tyr-R₁₆-Leu-Gly-Ser
- h) Ser-Ala-Met-Ser-Arg-Pro-R₁₇-R₁₇-His-Phe-Gly-R₁₄-Asp
- i) Asn-Met-R₁₈-Arg-Tyr-(Pro-R₁₄)-(Gln-Val-Tyr-Tyr-R₁₉)

in denen R₁₄ = Asn oder Ser, R₁₅ = Met, Leu oder Phe, R₁₆ = Met oder Val, R₁₇ = Ile, Leu oder Met, R₁₈ = His, Tyr oder Asn und R₁₉ = Lys oder Arg ist, und die in Klammern angegebenen Aminosäuren oder Sequenzbereiche nicht zwingend vorhanden sind.

4. Synthetisches Polypeptid nach einem der Ansprüche 1-3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Sequenz ggf. über eine übliche Spacersequenz mit einer "Konformations"-sequenz gekoppelt ist, die die Ausbildung einer definierten Konformation des synthetischen Polypeptids induziert.
5. Synthetisches Polypeptid nach einem der Ansprüche 1-4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die "Konformations"-sequenz die Ausbildung eines β -Strands induziert.

6. Synthetisches Polypeptid nach Anspruch 2, 4 und 5 entsprechend einer der folgenden Formeln :

e) (X)-(Gly)-Ala-Val-Val-Gly-Gly-Leu-Gly-Gly-Tyr-(R₁₃)-Z-Tyr-Tyr-R₃-Pro-R₄-Asp-R₅-Tyr-R₆-(Asn-Gln)-(Y)

f) (X)-Tyr-Tyr-R₃-Pro-R₄-Asp-R₅-Tyr-R₆-(Asn-Gln)-Z-(Gly)-Ala-Val-Val-Gly-Gly-Leu-Gly-Gly-Tyr-(R₁₃)-(Y)

wobei X und Y beliebige Aminosäuresequenzen sind, Z ein üblicher Spacer z.B Gly-Gly ist, R₃ = Arg oder Lys, R₅ = Gln, Glu oder Arg, R₆ = Ser oder Asn und R₁₃ = Met oder Val ist, und die in Klammern gesetzten Sequenzbereiche nicht zwingend vorhanden sein müssen.

7. Synthetisches Polypeptid nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß es in mindestens einer Teilsequenz in retro-Form vorliegt.
8. Synthetisches Polypeptid nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß mindestens eine der enthaltenen Aminosäuren in der D-Form vorliegt.
9. Synthetisches Polypeptid nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß es in derivatisierter Form vorliegt.
10. Pharmazeutische Zubereitung zur Therapie von Prionerkrankungen, **dadurch gekennzeichnet**, daß sie mindestens eines der in den Ansprüchen 1 - 9 genannten synthetischen Polypeptide oder mind. eine die definierten Sequenzen erkennende PrP^{Sc}-bindende Substanz in einer zur Therapie oder Vorbeugung ausreichenden Dosis enthält.

11. Mittel zur Diagnose von Prionerkrankungen, **dadurch gekennzeichnet**, daß es mindestens eines der in den Ansprüchen 1 - 9 genannten synthetischen Polypeptide oder mind. eine die definierten Sequenzen erkennende PrP^{Sc}-bindende Substanz in einer für den jeweiligen Nachweis ausreichenden Dosis enthält.
12. Impfstoff zur Vorbeugung und Therapie von Prionerkrankungen mit mindestens einem der Polypeptide gemäß den Ansprüchen 1 - 9 oder mind. einer die definierten Sequenzen erkennende PrP^{Sc}-spezifischen Substanz in einer zur Immunisierung ausreichenden Dosis.
13. Pharmazeutische Zubereitung, Mittel zur Diagnose oder Impfstoff nach einem der Ansprüche 9-12, **dadurch gekennzeichnet**, daß die enthaltene PrP^{Sc} -bindende Substanz rekombinant erzeugtes rbPrp mit der in Fig 4 wiedergegebenen Formel bzw. artspezifischer Abweichungen davon ist.
14. DNA-Molekül, das mindestens für eines der synthetischen Polypeptide nach den Ansprüchen 1 bis 9 kodiert.
15. Kit zur Detektion von PrP^{Sc} bzw. von Antikörpern dagegen, **dadurch gekennzeichnet**, daß er mindestens ein synthetisches Polypeptid nach den Ansprüchen 1 bis 9 enthält.
16. Verfahren zur Herstellung von PrP^{Sc} spezifischen Antikörpern, **dadurch gekennzeichnet**, daß nicht-menschliche Säugetiere mit mind. einem Polypeptid gemäß der Ansprüche 1-9 immunisiert werden und der bzw die dagegen gebildete(n) Antikörper nach einer zur Immunisierung ausreichenden Zeitperiode auf üblichem Wege aus dem Säugetier isoliert werden.

17. Verfahren zur Detektion von PrP^{Sc} spezifischen Oberflächensequenzbereichen, **dadurch gekennzeichnet**, daß eine PrP-spezifische Peptidbank mit PrP^{Sc} bindenden Substanzen inkubiert und mittels gängiger Visualisationstechniken die bindenden Bereiche der Peptidbank sichtbar gemacht und daraus die Sequenzbereiche ermittelt werden.
18. Verwendung der Polypeptide nach den Ansprüchen 1-9 in einer pharmazeutischen oder chemischen Library zur Detektion von von PrP^{Sc} - spezifischen Wirkstoffen.

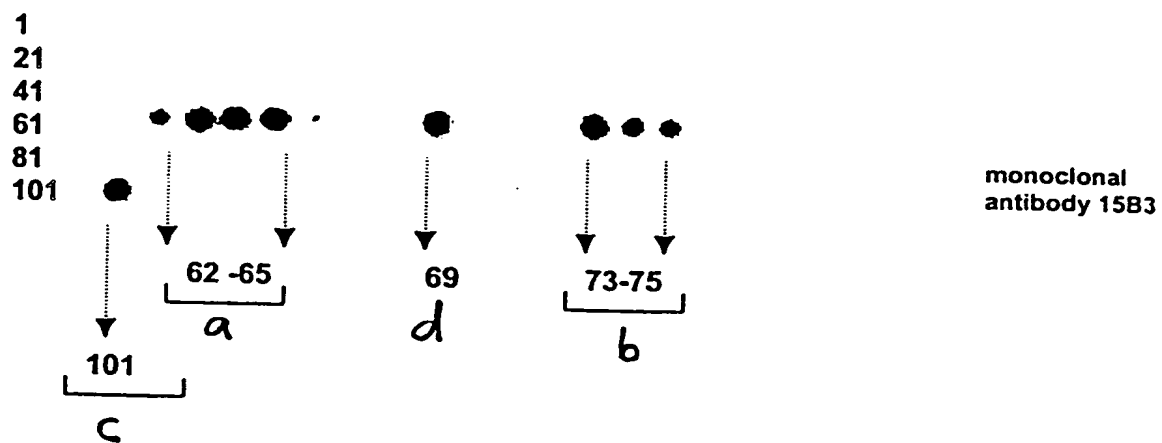


Fig 1

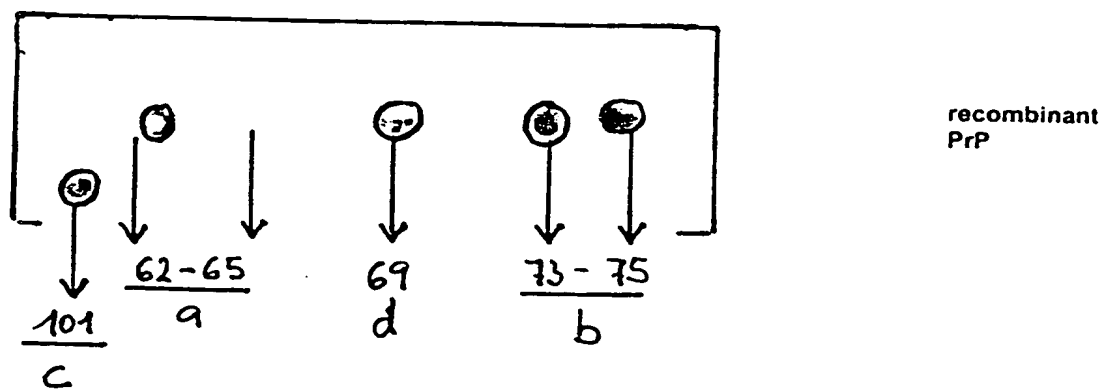


Fig 2

2/3

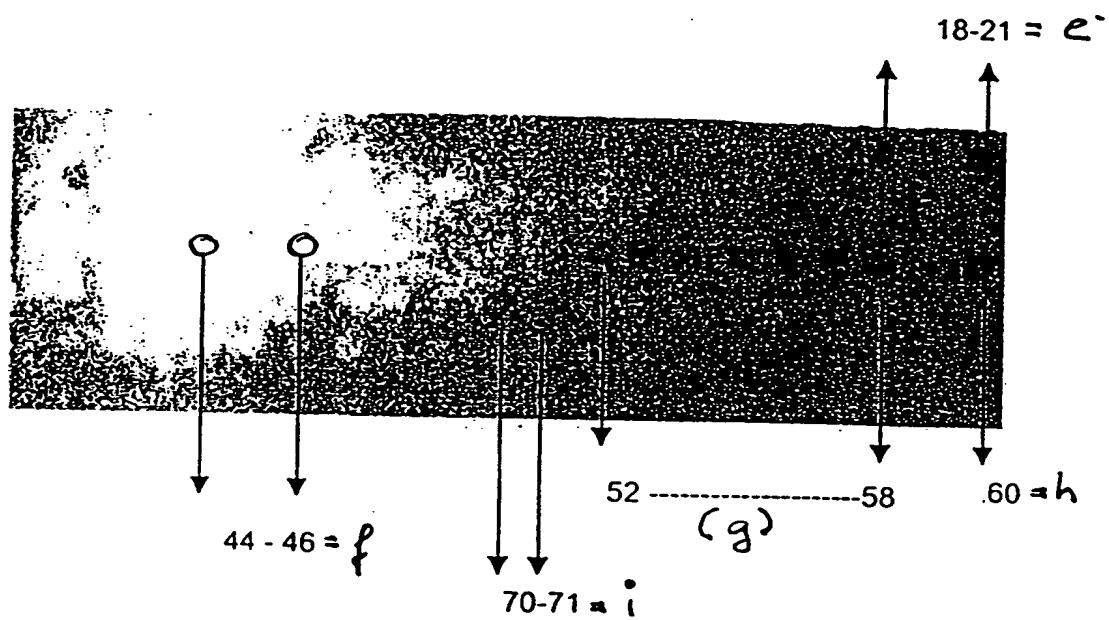


Fig 3

3/3

Met Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly Asn Arg Tyr Pro Pro Gln
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro
 35 40 45

His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro
 50 55 60

His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln
 65 70 75 80

Gly Gly Thr His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 85 90 95

Met Lys His Val Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly
 100 105 110

Leu Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Leu Ile His
 115 120 125

Phe Gly Ser Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met His Arg
 130 135 140

Tyr Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro Val Asp Gln Tyr Ser Asn Gln
 145 150 155 160

Asn Asn Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile Thr Val Lys Glu His Thr
 165 170 175

Val Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Ile Lys
 180 185 190

Met Met Glu Arg Val Val Glu Gln Met Cys Ile Thr Gln Tyr Gln Arg
 195 200 205

Glu Ser Gln Ala Tyr Tyr Gln Arg Gly Ala Ser
 210 215

Fig 4

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N15/12 C07K14/47 A61K38/17 A61K39/395 G01N33/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C12N C07K A61K G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| X | WO 93 11155 A (PROTEUS MOLECULAR DESIGN) 10 June 1993 see page 3, line 2 - line 24 see page 23, line 14 - line 22 see page 28, line 29 - page 29, line 29; claims; examples --- | 1-3,7-17 |
| X | WO 97 16728 A (UNIV CALIFORNIA) 9 May 1997 see page 6, line 11 - line 24; claims; examples; table 1 --- | 1,3,10 |
| P,X | EP 0 861 900 A (ZUERICH ERZIEHUNGSDIREKTION) 2 September 1998 see page 8, line 54 - page 9, line 8 see page 14, line 54 - page 15, line 37; claims; examples --- | 1-3, 10-18 |
| | --- -/-- | |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 February 1999

Date of mailing of the international search report

24/02/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fuhr, C

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| P,X | KORTH, C. ET AL: "Prion (PrPSc)-specific epitope defined by a monoclonal antibody" NATURE (LONDON) (1997), 390(6655), 74-77 CODEN: NATUAS;ISSN: 0028-0836, 6 November 1997, XP002092791 see the whole document ----- | 1-3, 10-18 |
| P,X | WO 98 35236 A (ENFER TECH LTD ;CONNOR MICHAEL O (IE)) 13 August 1998 see claims; examples ----- | 1-3,7-17 |
| A | WO 93 23432 A (UNIV NEW YORK ;INST NAZIONALE NEUROLOGICO C B (IT)) 25 November 1993 see claims; examples ----- | 1-17 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Applications Publication No

PCT/EP 98/05924

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9311155 A | 10-06-1993 | AU 675053 B | 23-01-1997 |
| | | AU 3089292 A | 28-06-1993 |
| | | CA 2124953 A | 10-06-1993 |
| | | EP 0616613 A | 28-09-1994 |
| | | JP 7501798 T | 23-02-1995 |
| | | NZ 246059 A | 28-08-1995 |
| | | US 5773572 A | 30-06-1998 |
| | | ZA 9209392 A | 27-07-1993 |
| WO 9716728 A | 09-05-1997 | US 5750361 A | 12-05-1998 |
| | | AU 7601296 A | 22-05-1997 |
| EP 0861900 A | 02-09-1998 | WO 9837210 A | 27-08-1998 |
| | | AU 6498698 A | 09-09-1998 |
| WO 9835236 A | 13-08-1998 | AU 6004698 A | 26-08-1998 |
| WO 9323432 A | 25-11-1993 | AU 4376093 A | 13-12-1993 |

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 C12N15/12 C07K14/47 A61K38/17 A61K39/395 G01N33/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C12N C07K A61K G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| X | WO 93 11155 A (PROTEUS MOLECULAR DESIGN) 10. Juni 1993 siehe Seite 3, Zeile 2 - Zeile 24 siehe Seite 23, Zeile 14 - Zeile 22 siehe Seite 28, Zeile 29 - Seite 29, Zeile 29; Ansprüche; Beispiele --- | 1-3, 7-17 |
| X | WO 97 16728 A (UNIV CALIFORNIA) 9. Mai 1997 siehe Seite 6, Zeile 11 - Zeile 24; Ansprüche; Beispiele; Tabelle 1 --- | 1, 3, 10 |
| P, X | EP 0 861 900 A (ZUERICH ERZIEHUNGSDIREKTION) 2. September 1998 siehe Seite 8, Zeile 54 - Seite 9, Zeile 8 siehe Seite 14, Zeile 54 - Seite 15, Zeile 37; Ansprüche; Beispiele --- | 1-3, 10-18 |
| | -/-- | |



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

9. Februar 1999

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

24/02/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Fuhr, C

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|-----------|--|--------------------|
| P,X | KORTH, C. ET AL: "Prion (PrPSc)-specific epitope defined by a monoclonal antibody" NATURE (LONDON) (1997), 390(6655), 74-77 CODEN: NATUAS;ISSN: 0028-0836, 6. November 1997, XP002092791 siehe das ganze Dokument --- | 1-3, 10-18 |
| P,X | WO 98 35236 A (ENFER TECH LTD ;CONNOR MICHAEL O (IE)) 13. August 1998 siehe Ansprüche; Beispiele --- | 1-3,7-17 |
| A | WO 93 23432 A (UNIV NEW YORK ;INST NAZIONALE NEUROLOGICO C B (IT)) 25. November 1993 siehe Ansprüche; Beispiele ----- | 1-17 |

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| WO 9311155 A | 10-06-1993 | AU 675053 B | 23-01-1997 |
| | | AU 3089292 A | 28-06-1993 |
| | | CA 2124953 A | 10-06-1993 |
| | | EP 0616613 A | 28-09-1994 |
| | | JP 7501798 T | 23-02-1995 |
| | | NZ 246059 A | 28-08-1995 |
| | | US 5773572 A | 30-06-1998 |
| | | ZA 9209392 A | 27-07-1993 |
| WO 9716728 A | 09-05-1997 | US 5750361 A | 12-05-1998 |
| | | AU 7601296 A | 22-05-1997 |
| EP 0861900 A | 02-09-1998 | WO 9837210 A | 27-08-1998 |
| | | AU 6498698 A | 09-09-1998 |
| WO 9835236 A | 13-08-1998 | AU 6004698 A | 26-08-1998 |
| WO 9323432 A | 25-11-1993 | AU 4376093 A | 13-12-1993 |

4
.
.
.

ji
z
..

REPLACED BY
ART 34 AMDT

1/3

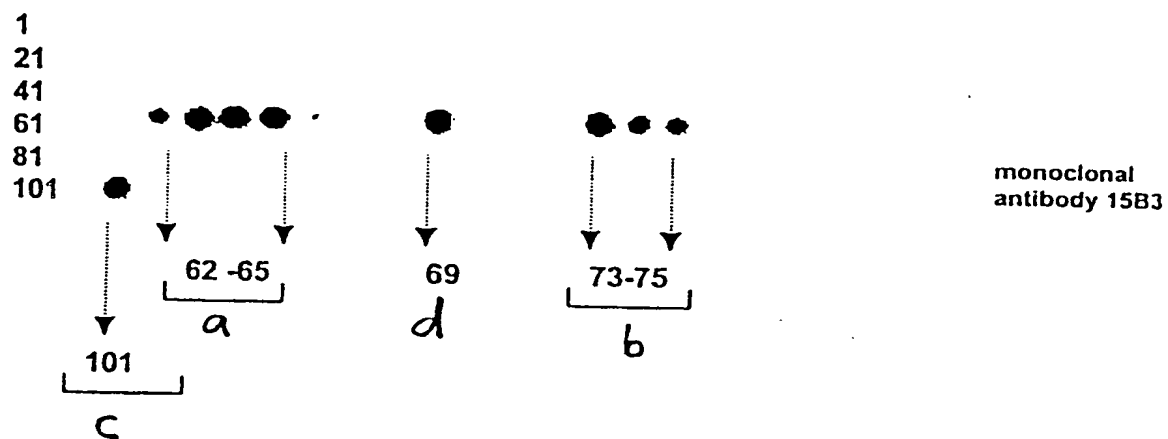


Fig 1

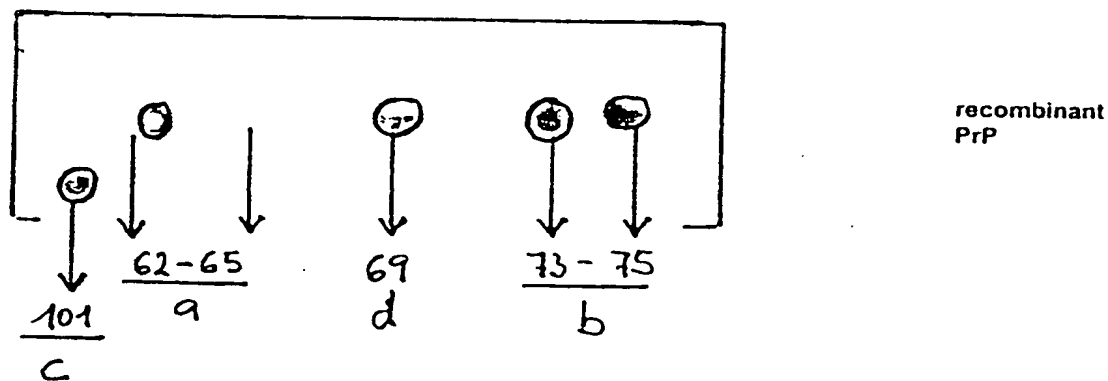


Fig 2

Yd 650.1.1
Yd 650.1.2

2/3

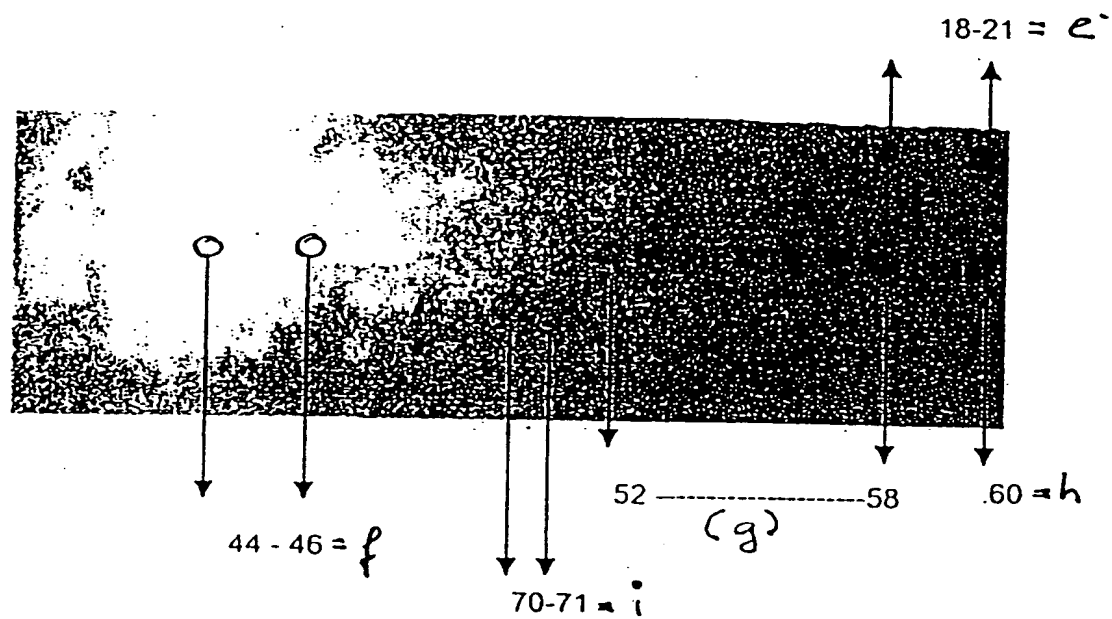


Fig 3

3/3

Met Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Gly Trp Asn Thr Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly Asn Arg Tyr Pro Pro Gln
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro
 35 40 45

His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro
 50 55 60

His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln
 65 70 75 80

Gly Gly Thr His Gly Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn
 85 90 95

Met Lys His Val Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly
 100 105 110

Leu Gly Gly Tyr Met Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Leu Ile His
 115 120 125

Phe Gly Ser Asp Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met His Arg
 130 135 140

Tyr Pro Asn Gln Val Tyr Tyr Arg Pro Val Asp Gln Tyr Ser Asn Gln
 145 150 155 160

Asn Asn Phe Val His Asp Cys Val Asn Ile Thr Val Lys Glu His Thr
 165 170 175

Val Thr Thr Thr Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Ile Lys
 180 185 190

Met Met Glu Arg Val Val Glu Gln Met Cys Ile Thr Gln Tyr Gln Arg
 195 200 205

Glu Ser Gln Ala Tyr Tyr Gln Arg Gly Ala Ser
 210 215

Fig 4

11